LINEA LIQUIDA

Fer-color

AA

Método colorimétrico directo para la determinación de hierro en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

El hierro se distribuye en el organismo de diferentes maneras, incluyendo hemoglobina, hierro tisular y mioglobina. El transporte de hierro de un órgano a otro se realiza mediante una proteína transportadora llamada apotransferrina. El complejo que forma con el hierro se conoce como transferrina.
La ferritina, localizada en casi todas las células del cuerpo, constituye una reserva de hierro disponible para la formación de la hemoglobina y otras proteínas que contienen el grupo hemo. La absorción de hierro ocurre principalmente en el duodeno. Tanto la ferritina como la transferrina están presentes en las células de la mucosa intestinal y juntas regulan la absorción de hierro.
Los mayores desórdenes del metabolismo de hierro se relacionan con su deficiencia o exceso, sin embargo, se han observado alteraciones en muchas otras enfermedades, incluyendo anemia, enfermedades cardiovasculares, hepatitis crónica, enfermedades renales e infecciones.
La anemia por pérdida de hierro representa uno de los trastornos orgánicos más frecuentes, especialmente en niños, mujeres jóvenes, embarazadas y ancianos. También las úlceras gástricas o duodenales y carcinomas de estómago, constituyen causas de anemia ferropénica.
Por el contrario, el exceso de hierro se asocia con otros desórdenes, como hemosiderosis, hemocromatosis y anemia sideroblástica.
Las técnicas fotométricas para la determinación de hierro en suero se basan en la formación de un complejo con un cromógeno, entre los cuales ferrozina y batofenantrolina han sido ampliamente usados.
El presente método emplea ferene, un agente quelante adicional, con el objetivo de aumentar la sensibilidad del ensayo colorimétrico. Este compuesto presenta una elevada absortividad molar, es más sensible que ferrozina y facilita la detección de hierro.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El hierro se libera del complejo de transferrina en medio ácido y se reduce a Fe (II) con ácido ascórbico. Seguidamente reacciona con el reactivo de color, ferene, dando un complejo color azul que se mide a 600 nm. La absorbancia obtenida es directamente proporcional a la concentración de hierro.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de ácido cítrico 200 mM, ácido ascórbico 34 mM, tiourea 100 mM y tensioactivo.
B. Reactivo B: solución estabilizada de ferene > 3 mM.
S. Standard*: solución de iones hierro (III) equivalente a 100 ug/dl.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Calibrador A plus de Wiener lab.
- Agua desionizada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro". Evitar la ingestión y el contacto con los ojos.
El Reactivo A contiene tiourea. Estudios experimentales realizados con esta droga en animales han evidenciado un posible efecto carcinogénico.
Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.
Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos A y B: son estables en refrigerador (2-10ºC) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.
Standard: es estable a temperatura ambiente (< 25ºC) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Variaciones en las lecturas de Blancos de Reactivos y/o Standard indican contaminaciones ocasionales (agua, material de vidrio, etc.).
Un aumento en el valor de los Blancos indicará una contaminación con hierro.

MUESTRA

Suero o plasma heparinizado
a) Recolección: el paciente debe estar en ayunas y las extracciones deben practicarse siempre a la misma hora (preferentemente de mañana) ya que las fluctuaciones fisiológicas son significativas durante el día.
b) Aditivos: en caso de utilizar plasma como muestra debe usarse heparina como anticoagulante.
c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por hemoglobina hasta 300 mg/dl, bilirrubina conjugada hasta 12 mg/dl, bilirrubina no conjugada hasta 35 mg/dl y heparina hasta 50 UI/ml. Los triglicéridos no interfieren hasta 1000 mg/dl utilizando técnica automática y 250 mg/dl con técnica manual.
Si bien hemólisis ligeras no interfieren con este método, el

** No provisto en todas las presentaciones*

International Committee for Standardization in Hematology (ICSH) recomienda el uso de suero libre de hemólisis.
Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.
d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: el suero o plasma heparinizado pueden conservarse una semana en refrigerador (2-10ºC) o hasta un año a -20ºC.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)
- Espectrofotómetro o analizador automático.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos o cubetas espectrofotométricas.
- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION
- Longitud de onda: 600 nm
- Temperatura de reacción: temperatura ambiente (< 25ºC)
- Tiempo de reacción: 5 minutos
- Volumen de muestra: 200 ul
- Volumen total de reacción: 1,4 ml

PROCEDIMIENTO
En tres tubos marcados B (Blanco de Reactivos), S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

	B	S	D
Agua bidestilada	200 ul	-	-
Standard	-	200 ul	-
Muestra	-	-	200 ul
Reactivo A	1 ml	1 ml	1 ml

Mezclar. Leer la absorbancia del tubo D (Blanco de Suero BS) en espectrofotómetro a 600 nm llevando a cero el aparato con agua. Luego agregar:

Reactivo B	200 ul	200 ul	200 ul

Mezclar inmediatamente. Volver a leer cada tubo a los 5 minutos, llevando el aparato a cero con agua.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL
Los tubos deben ser leídos entre 5 y 30 minutos luego de completados los pasos del procedimiento.

CALCULO DE LOS RESULTADOS
Corregir las lecturas de S y D, restándoles los Blancos correspondientes:

S - B = S corregida
D - (B + BS) = D corregida

Fe (ug/dl) = D corregida x f

$$\text{donde: } f = \frac{\text{100 ug/dl (Standard)*}}{\text{S corregida}}$$

* Si se emplea **Calibrador A plus** consultar los valores asignados debido a que son lote específico. En este caso, la lectura del calibrador deberá corregirse restando el blanco correspondiente.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD
Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de hierro, con cada determinación.

VALORES TEORICOS
Hombres: 65 a 175 ug/dl (11,6-31,3 umol/l)
Mujeres: 50 a 170 ug/dl (9-30,4 umol/l)

VALORES DE REFERENCIA
En un grupo de 20 mujeres y 20 varones sanos, con edades oscilando entre los 18 y 51 años, se halló un rango de 55 a 175 ug/dl* con los siguientes promedios:

Hombres: 114,6 ug/dl (20,5 umol/l)
Mujeres: 103,3 ug/dl (18,5 umol/l)

*Valores de referencia extraidos de archivos de Wiener lab. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI
Hierro (ug/dl) x 0,179 = Hierro (umol/l)

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO
- Valores de Blanco aceptables son necesarios para prevenir posibles contaminaciones del agua y los reactivos con hierro. El Blanco de Reactivos, procesado de acuerdo al Manual de Instrucciones, no debe ser superior a 0,05 D.O. debiendo ser además despreciable la contribución del agua en dicho Blanco. Para ello se recomienda el uso de agua de calidad comprobada.
- El Reactivo A puede adquirir un leve color amarillo con el transcurso del tiempo que no afecta su reactividad.
- Limpieza del material: todo el material de laboratorio empleado debe estar libre de hierro, para ello debe ser sumergido durante al menos durante 6 horas en HCl 10%, eliminando la acidez mediante numerosos lavados con agua libre de hierro. Todo el material debe ser empleado exclusivamente para la determinación de hierro.

PERFORMANCE
a) Reproducibilidad: procesando de acuerdo al documento EP15-A del CLSI (ex-NCCLS), se obtuvo lo siguiente:

Precisión intraensayo (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
61,84 ug/dl	± 0,87 ug/dl	1,40 %
116,89 ug/dl	± 0,46 ug/dl	0,39 %
236,31 ug/dl	± 0,72 ug/dl	0,31%

Precisión total (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
61,82 ug/dl	± 0,88 ug/dl	1,42 %
116,89 ug/dl	± 1,30 ug/dl	1,11 %
236,31 ug/dl	± 2,83 ug/dl	1,20 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 1500 ug/dl en autoanalizadores y hasta 1000 ug/dl en técnica manual.
c) Límite de detección: la mínima concentración de hierro detectable, utilizando el método de **Fer-color AA líquida** es de 1 ug/dl.
d) Límite de cuantificación: la mínima concentración de hierro que se puede determinar cuantitativamente con precisión y exactitud aceptables con el método de **Fer-color AA líquida** es de 4 ug/dl.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS
Para las instrucciones de programación debe consultarse el Manual del Usuario del analizador en uso. Para la calibración debe emplearse **Calibrador A plus** de Wiener lab. de acuerdo a los requerimientos del analizador.

PRESENTACION
120 ml: - 1 x 100 ml Reactivo A
- 1 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1492360)

120 ml: - 2 x 50 ml Reactivo A
- 2 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009285)

120 ml: - 2 x 50 ml Reactivo A
- 2 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009336)

BIBLIOGRAFIA

- I.C.S.H. - Am. J. Clin. Path. 56/4:543-545 (1971).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- Burtis,C.A.; Ashwood, E.R. - "Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry", 5ª edición, 2001.
- Imbert-Bismut et al, - Clin. Chem., 47/11: 2059-2061, 2001.
- Tietz, N.W.; Rinker, A.D.; Morrison, S.R. - Clin. Chem. 40/4:546-551, 1994.
- Artiss, J.D. et al. - Clin. Biochem. 14/6:311-315, 1981.
- Smith, F.E. - Clin. Biochem. 17:306-310, 1984.
- NTP, National Toxicology Program, Departmen of Health and Human Service, Report of Carcinogens, 2005.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP15-A, 2001 / EP6-A, 2003 / EP17-A, 2004.

SIMBOLOS
Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

CE	Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea
IVD	Uso diagnóstico "in vitro"
	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Fecha de caducidad
	Límite de temperatura (conservar a)
	No congelar
	Riesgo biológico
→	Volumen después de la reconstitución
Cont.	Contenido
LOT	Número de lote
	Elaborado por:
Xn	Nocivo
	Corrosivo / Caústico
Xi	Irritante
	Consultar instrucciones de uso
Calibr.	Calibrador
CONTROL	Control
CONTROL +	Control Positivo
CONTROL −	Control Negativo
REF	Número de catálogo

Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
http://www.wiener-lab.com.ar
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-27

Wiener lab.
2000 Rosario - Argentina